

Medicaments contg. anti-idiotypic-CD14 antibodies - having high endotoxin binding capacity, used for treating e.g. infections, burns, ARDS, septic shock or psoriasis

AI

Patent Number: DE4237502

Publication date: 1994-05-11

Inventor(s): SCHUETT CHRISTINE PROF DR (DE); DIETZ HELMUT DR (DE); WITT SABINE DR (DE); KRUEGER CHRISTIAN DR (DE)

Applicant(s):: BIOMETEC GES FUER BIO MEDIZINI (DE)

Requested Patent: ☐ DE4237502

Application Number: DE19924237502 19921106

Priority Number (s): DE19924237502 19921106

IPC Classification: A61K39/395

EC Classification: C07K16/42K14B

Equivalents:

#6

Abstract

Medicaments contain one or more monoclonal anti-idiotypic antibodies (I) with CD14-imitating function. (I) are pref. humanised by genetic engineering or adapted for other species. Pref. (I) imitates sequences of glycosylated or non-glycosylated CD14. Also claimed are numerous uses of anti-idiotypic-CD14 antibodies (I') (see "USE"). CD14, a monocyte differentiation antigen, is a glycosylated protein of human origin (CD = cluster of differentiation).

USE/ADVANTAGE - (I) recognise and neutralise endotoxins (ET) (claimed). Claimed medicinal uses of (I') are for prophylaxis or therapy of diseases by reducing ET damage, prevention of sCD14-mediated cell activation and therapy of infections; the diseases involved are specifically burns (or sequellae), polytrauma (or sequellae), multi-organ failure, ARDS, septic shock, severe infections with AIDS, sequellae of therapy in immunosuppressed patients, liver diseases, immune defects, skin diseases (e.g. psoriasis), rejection crises, graft-versus-host disease and auto-immune disease. Other claimed uses of (I') are : for prodn. of ET-specific adsorbents, for removing ET from patients, animals, nutrient media, infusion solns., rinsing solns. and other sterile prods.; and for detection of ET, ET-binding substances, exotoxins and other specific binding substances. (I) are useful for therapy and prophylaxis of viral or bacterial infections, esp. those associated with sepsis or ET shock. They are also useful prophylactically, e.g. for excluding ET during operations or organ transplantation.

(I) have high ET-binding capacity. Unlike conventional anti-ET antibodies (e.g. raised against ET, LPS or lipid A) (I) do are not gp.- or strain-specific, and do not bind differently to free ET and whole bacteria contg. cell-bonded ET.

Data supplied from the esp@cenet database - I2



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 42 37 502 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁵:
A 61 K 39/395

②1 Aktenzeichen: P 42 37 502.9
②2 Anmeldetag: 6. 11. 92
④3 Offenlegungstag: 11. 5. 94

DE 42 37 502 A 1

⑦1 Anmelder:
biometec Gesellschaft für Bio-medizinische
Technologien mbH, 2500 Rostock, DE

⑦2 Erfinder:
Schütt, Christine, Prof. Dr., O-2200 Greifswald, DE;
Krüger, Christian, Dr., O-2220 Wolgast, DE; Witt,
Sabine, Dr., O-2200 Greifswald, DE; Dietz, Helmut,
Dr., O-2200 Greifswald, DE

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑤4 Arzneimittel enthaltend Antiidiotyp-Antikörper gegen Anti-CD14-Antikörper

⑤7 CD14 als Endotoxinrezeptor vermittelt die TNF-, IL1-, IL6- und Sauerstoffradikalproduktion aus Monozyten. Diese Mediatoren sind maßgeblich beteiligt an der Entwicklung von Multiorganversagen, Sepsis und Schock. Demzufolge ist die Verhinderung einer exzessiven Mediatorfreisetzung Ziel der therapeutischen Konzepte. CD14 in löslicher Form verhindert als löslicher Rezeptor die Mediatorfreisetzung. Demzufolge können Antikörper mit CD14 imitierender Struktur ihrer hypervariablen Regionen (Antiidiotypische-Anti-CD14-Antikörper) mit gleichem Ziel eingesetzt werden. Ziel ist die Bereitstellung eines neuen Arzneimittels, enthaltend Antiidiotypische Antikörper mit endotoxinneutralisierender Wirkung. Um Antiidiotypische Antikörper herzustellen, werden zuerst monoklonale Maus-Antikörper gegen die Endotoxinbindungsstelle von CD14 nach Immunisierung mit humanen Monozyten und Boosterung mit löslichem CD14 hergestellt (Antikörper 1). Nach Immunisierung mit dem Antikörper 1 werden monoklonale Antiidiotypische Antikörper (Antikörper 2) produziert. Durch Antibody engineering werden diese Antiidiotypischen Antikörper für den therapeutischen Einsatz vorbereitet. Die Antiidiotypischen Antikörper mit CD14 imitierender Funktion werden als Arzneimittel zur Therapie von Bakteriämien und Endotoxinämien sowie zur LPS-Entfernung aus diversen Lösungen, Medien und Substanzen Einsatz finden.

DE 42 37 502 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Gegenstand dieser Erfindung ist ein neues Arzneimittel enthaltend Antikörper mit CD14-imitierender Funktion. Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Arzneimittel enthaltend Anti-Idiotyp-Antikörper, welche aus Immunisierungen gegen idiotypische Abschnitte von Anti-CD14-Antikörpern gewonnen wurden und welche die Endotoxin-bindende Kapazität des Endotoxin-Rezeptors CD14 imitieren, sowie die Verwendung dieser Anti-Idiotyp-Antikörper zur Prophylaxe oder Therapie einer Sepsis.

Darüber hinaus ist Gegenstand der Erfindung die Verwendung von Anti-Idiotyp-Antikörpern gegen Anti-CD14-Antikörper als Endotoxin-neutralisierendes Prinzip. Darüber hinaus ist Gegenstand der Erfindung die Verwendung von Anti-Idiotyp-Antikörpern gegen Anti-CD14-Antikörper zum Nachweis von Endotoxinen, endotoxinbindenden Substanzen.

CD14 (Cluster of Differentiation) ist ein im Menschen vorkommendes, glykosyliertes Protein. Es ist ein membranständiges Differenzierungsantigen von Monozyten, das auch auf aktivierten neutrophilen Granulozyten und einigen Makrophagen exprimiert wird. Dieses Molekül kann mittels monoklonaler Antikörper nachgewiesen werden. Weiterhin ist bekannt, daß CD14 in löslicher Form im Serum und anderen Körperflüssigkeiten vorkommt (Bazil, V., Horejsi, V., Baudys, M., Kristofova, H., Strominger, J.L., Kostka, W. and Hilgert, I.: Biochemical characterization of a soluble form of the 53 kDa monocyte surface antigen. EUR. J. IMMUNOL. 16, 1583—1589 (1986)).

Aus Haziot, A. et al. (The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. J. IMMUNOL. 141, 547—552 (1988)) ist die CD14 Sequenz bekannt. Darüber hinaus wird in dieser Veröffentlichung festgestellt, daß CD14 über Phosphatidylinositol-Bindungen an die Zellmembran koppelt.

Weiterhin ist aus Goyert, S.M. et al. (The CD14 monocyte differentiation antigen maps to a region encoding growth factors and receptors. SCIENCE 239, 439—500 (1988)) bekannt, daß CD 14 fünf N-Glykosylierungsstellen aufweist.

Membranständiges CD14 (mCD14) hat ein Molekulargewicht von ca. 53 kDa, lösliches CD14 (sCD14) ca. 48 kDa. CD14 ist als LPS-Rezeptor identifiziert worden. Die LPS-(Endotoxin)-Bindung wird über Serumproteine wie Septin oder LBP (LPS-bindendes Protein) vermittelt. (Wright, S.D. Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch R.J., and Mathison, J.C.: CD14, a receptor for lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. SCIENCE 249 1431—1433 (1990), Wright, S.D. Ramos, R.A., Pate, M. and Miller, D.S.: Septin: a factor in plasma that opsonizes lipopolysaccharide bearing particles for recognition by CD14 on phagocytes. J. Exp. Med. 176, 719—727 (1992). CD14 ist eine Rezeptorstruktur, die die LPS-induzierbare TNF-Synthese der CD14-exprimierenden Zellen vermittelt (Wright, 1990 s. o.). CD14 ist eine Rezeptorstruktur, die außerdem die IL1, IL6 und Sauerstoffradikalproduktion vermittelt.

Diese Mediatoren sind maßgeblich beteiligt an der Entwicklung eines Multiorganversagens, Sepsis und Schock (Redl, H., Schlag, G.: Pathophysiology of multi organ failure (MOF) proposed mechanism. CLIN. INTENS. CARE 1, 66—71 (1990), Beutler, B. and Cermani, A.: Cachectin tumor necrosis factor: an endogenous mediator in shock and inflammation. IMMUNOL. RES. 5,

281—293 (1987), Joka, Th., Obertacke, U., Sturm, J., Jochum, M., Kirschfink, M., Schramm, W., Dwenger, A., und Bartels, H.: Startreaktionen des traumatischen Schocks. H. UNFALLHEILKUNDE 212, 45—53 (1990), Danner, R.L., Ein, R.J., Eilly, J.M., Hosseini, J.M., Schlesinger, T.L. and Parrillo, J.E. Endotoxemia in human septic shock. CRIT. CARE MED. 16, 397 (1988); Beutler, B., Milsark, I.W. and Cerami, A.C.: Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. SCIENCE 229, 869—870 (1985); Michie, H.R. Manogue, K.R., Spriggs, D.R. et al.: Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. N. ENGL. J. MED. 318, 1481—1486 (1988).

Demzufolge ist die Verhinderung einer exzessiven Mediatorfreisetzung Ziel der therapeutischen Konzepte.

CD14 in löslicher Form verhindert als löslicher Rezeptor die Aktivierung einer Zelle (Monozyt oder Granulozyt) über das CD14-Molekül (Schütt, C. Schilling, T. and Krüger, C.: sCD14 prevents endotoxin inducible oxidative burst response of human monocytes ALLERGIE IMMUNOL. 37, 159—164 (1991); Schütt, C. Schilling, T., Grunwald, U., Schönfeld, W., Krüger, C.: Endotoxin-neutralizing capacity of soluble CD14. RES IMMUNOL. 143, 71—78 (1992)).

Demzufolge können Antikörper mit gleicher/ähnlicher Struktur der hypervariablen Regionen mit gleichem Ziel eingesetzt werden.

Es ist weiterhin bekannt, daß einige Anti-CD14-Antikörper Epitope am CD14 binden, die für die Endotoxin-Bindung wichtig sind (Schütt et al.: RES. IMMUNOL. s. o.). Werden gegen derartige Antikörper Antiidiotypische Antikörper hergestellt, können unter diesen Antikörpern sein, die die CD14-Bindungsstelle in ihrer hypervariablen Region sozusagen als "internal image" imitieren, d. h. funktionell gleichartig wie CD14 binden.

Im folgenden ist eine entsprechende Herstellung beispielhaft aufgeführt:

1. Präparation von sCD14 aus menschlichem Urin.
2. Immunisierung von Mäusen mit Humanmonozyten (CD14-exprimierend) und anschließend mit sCD14.
3. Selektion von monoklonalen Anti-CD14-Antikörpern mit einer Epitopspezifität für LPS relevante CD14 Epitope, die eine funktionelle Hemmung der CD14-Endotoxin-Bindung verursachen, mittels FITC-markiertem LPS im FACS-Analysator an humanen Monozyten (Grunwald et al., CIRCULATORY SHOCK 1992, in press) = Antikörper 1.
4. Immunisierung von Mäusen mit derartigem Antikörper 1 (Maus-Antikörpern).
5. Selektion von Anti-Idiotyp-Antikörpern gegen Antikörper 1 = Antikörper 2 mittels ELISA und funktionelle Testung auf Hemmung der FITC-LPS-Bindung an humanen Monozyten.
6. Antibody engineering (Humanisierung oder ähnliches) für geplante therapeutische Einsätze in verschiedenen Spezies bzw. Herstellung von Spaltprodukten dieser Antikörper.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines neuen Arzneimittels enthaltend Antikörper mit endotoxinneutralisierender Kapazität.

Die EP-A-O 330 191 erwähnt die Verwendung gentechnologisch hergestellter CD-Moleküle als therapeutische und diagnostische Werkzeuge für verschiedene

Zwecke. Dort wird beschrieben, daß aktive Fragmente der gentechnologisch hergestellten CD-Moleküle zu diesen Zwecken eingesetzt werden können. Betont wird dabei ausdrücklich die Verwendung von rekombinanten CD-Molekülen und nicht etwa aus natürlichen Quellen isolierte CD-Moleküle. Die EP-A-O 330 191 umfaßt Arzneimittel enthaltend CD14. Hier wird die ausdrückliche Verwendung von natürlichem CD14 als Arzneimittel angezeigt. CD14 hat ein Molekulargewicht von 53 kDa. Die Anti-Idiotyp-Antikörper haben ein Molekulargewicht von ca. 150 kDa, besitzen 2 effektive Bindungsstellen, die die Rezeptorwirkung von CD14 erfüllen und haben ein Antikörper-typisches Fc-Fragment, daß wesentliche Funktionen bei der natürlichen Elimination der antikörpergebundenen Endotoxine erfüllt (z. B. Bindung an zelluläre Fc-Rezeptoren und nachfolgende Phagozytose etc.).

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines Arzneimittels zur Therapie und Prophylaxe von viralen oder bakteriellen Infektionen, insbesondere solchen, die im Zusammenhang mit Sepsis und dem Endotoxin-Schock stehen. Das wirksame Prinzip des Arzneimittels sollte auch eine hohe Endotoxin-Bindungskapazität aufweisen und in eng sprechend aufbereiteter Form auch in präventiver Weise eingesetzt werden können, um beispielsweise iatrogene Einwirkungen in Form von Einschleppung von Endotoxinen während einer Operation oder einer Organverpflanzung zu verhindern.

Diese Aufgabe wird überraschend gelöst durch ein Arzneimittel, enthaltend Antikörper mit analoger Wirkung wie ein löslicher LPS-Rezeptor, die als Mausantikörper, Spaltprodukte oder humanisierte Antikörper die CD14-Rezeptorbindung oder Endotoxin-Bindung imitieren. Diese Antikörper unterscheiden sich von Anti-Endotoxin-Antikörpern, die durch die Immunisierung mit Endotoxinen, LPS, Lipid A oder analogen Endotoxinbruchstücken verschiedener Gramnegativer Bakterien hergestellt werden.

Diese binden entweder nicht Endotoxine beliebiger Erreger, d. h. sind gruppen- oder stammspezifisch oder binden nicht in gleicher Weise freie Endotoxine und ganze Bakterien mit membranverankertem Endotoxin.

Diese Aufgabe wird überraschend gelöst durch Anti-Idiotyp-Antikörper mit Endotoxinbindenden Kapazitäten, die der natürlichen Rezeptorbindung durch CD14 entspricht, d. h. sie besitzen absolute in vivo-Relevanz.

Diese Erfindung war überraschend. Im gesamten Stand der Tierkunde findet sich kein Hinweis auf eine entsprechende Wirkung, bzw. kein Hinweis auf Anti-Idiotyp-Antikörper mit endotoxin-neutralisierender Wirkung.

Überraschend war auch die hohe Bindungskapazität der Anti-Idiotyp-Antikörper.

Patentansprüche

1. Arzneimittel enthaltend einen (mehrere) monoklonale Anti-Idiotyp-Antikörper mit CD14-imitierender Funktion.
2. Arzneimittel gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es durch antibody engineering humanisiert, bzw. für andere Spezies angepaßt wird.
3. Arzneimittel gemäß Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß es Sequenzen von glykosyliertem bzw. nicht-glykosyliertem CD14 imitiert.
4. Arzneimittel gemäß Anspruch 1 und 2, dadurch ge-

kennzeichnet, daß es Endotoxine und Exotoxine erkennt und neutralisiert.

5. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie von Krankheiten, bei denen Endotoxinschäden vermieden werden sollen.

6. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Therapie von Verbrennungen und Prophylaxe von Folgeschäden.

7. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Therapie von Polytraumen und Prophylaxe von Folgeschäden.

8. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie von Multiorganversagen.

9. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie von ARDS.

10. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie von septischem Schock.

11. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie schwerer Infektionen bei AIDS.

12. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe von Folgeschäden bei Therapie bei immunsupprimierten Patienten.

13. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie bei Lebererkrankungen.

14. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe oder Therapie bei Immundefekten.

15. Verwendung dieses Arzneimittels in Human- und Veterinärmedizin (z. B. nach antibody engineering zur Anpassung an entsprechende Spezies).

16. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Abwendung sCD14-vermittelter Zellaktivierungen.

17. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Therapie von Infektionen.

18. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Therapie von Hauterkrankungen, z. B. Psoriasis.

19. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Therapie von Rejektionskrisen.

20. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Therapie von Graft versus-Host-Reaktionen.

21. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Therapie von Autoimmunerkrankungen.

22. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zur Herstellung von endotoxinspezifischen Adsorbentien zur Erreichung von Endotoxinfreiheit in Patienten, Tieren, Nährmedien, Infusionslösungen, Spüllösungen und anderen sterilen Produkten.

23. Verwendung von Anti-Idiotyp-CD14-Antikörpern zum Nachweis von Endotoxinen, endotoxinbindenden Substanzen, Exotoxinen und anderen spezifisch bindenden Substanzen.

- Leerseite -